الكلية	القانون
القسم	القانون
المادة باللغة الانجليزية	Plant tissue culture
المادة باللغة العربية	زراعة الانسجة النباتية
المرحلة الدراسية	
اسم التدريسي	محمد رجب كامل علي العسافي
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Stages of propagation by tissue culture
عنوان المحاضرة باللغة العربية	مراحل الاكثار بزراعة الانسجة
رقم المحاضرة	3
المصادر والمراجع	**الرفاعي,** عبدالرحيم توفيق وسمير عبد الرزاق الشوبكي (2007). زراعة الانسجة والاكثار الدقيق للنبات, المكتبة المصرية للطباعة والنشر , الطبعة الأولى , كلية الزراعة – جامعة المينا – جمهورية مصر العربية
	المختار, سراب عبد الهادي (2020). زراعة الانسجة النباتية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي - كلية الزراعة – جامعة كربلاء . العراق.

محتوى المحاضرة

مراحل الاكثار بزراعة الانسجة

تقسم مراحل الاكثار باستخدام تقنية زراعة الانسجة الى **اربعة مراحل رئيسية هي-:**

اولا - مرحلة انشاء الزروعات Establishment stage

وهي اولى مراحل الاكثار والتي يتم فيها اختيار الجزء النباتي المستخدم بأنشاء الزروعات ويتم اختيار الجزء النباتي حسب الهدف المطلوب وحسب نوع النبات .وان الهدف من هذه المرحلة هو الحصول على نمو اولي للأجزاء النباتية المزروعة سواء كانت قمم نامية او مرستيمات قمية او براعم جانبية .

وان العوامل الاساسية المؤثرة على هذه المرحلة هي-:

أ.-التخلص من مسببات التلوث.

ب -الاختيار المناسب للجزء النباتي.Explant))

ج -مكونات الوسط الغذائي.

د -الظروف البيئية.

اهم المعوقات التي تواجه العاملين في هذا المجال في هذه المرحلة

1- التلون البيئي اسمرار الوسط الغذائي Browning

ان بعض الانسجة التي تحتوي على نسب عالية من المواد الفينولية تكون صعبة الاكثار, ففي حالة زراعة القمم النامية المأخوذة من الاشجار الخشبية يؤدي الى تلون الوسط الغذائي باللون البني وخاصة المنطقة المحيطة بقاعدة الجزء النباتي المزروع ((Explant ويعتقد **ان سبب ذلك** يعود الى تحفيز نشاط انزيمات **Polyphenolase** نتيجة لأحداث الجروح في النسيج النباتي وتعمل هذه الانزيمات على اكسدة المركبات الفينولية متسببة في تكوين مواد مثبطة للنمو فضلا عن تحول لون الوسط الغذائي الى اللون البني .ويعتقد البعض بأن مصدر المركبات الفينولية ناتجا اما من زيادة المحتوى الداخلي للجزء المزروع من هذه المواد وعند زراعته سوف تخرج من منطقة الجرح وتنتقل الى الوسط الغذائي ,لو ان احداث الجروح يؤدي الى قيام النسيج النباتي بإنتاج هذه المركبات .ولضمان نجاح زراعة الانسجة المزروعة لابد من السيطرة على تأثير هذه المواد في تثبيط **النمو ويكون ذلك من خلال-:**

أ-اضافة مواد مانعة للأكسدة -:حيث تضاف مواد تحد من اكسدة المواد الفينولية كاستخدام حامض الاسكوربك **Ascorbic acid والذي** هو فيتامين **C** وحامض الستريك **Citric acid** او اضافة مادة ال. **Polyvinyl poly pyrolidine**

ب -نقع الاجزاء النباتية بمحلول منع للأكسدة قبل زراعتــــــــــــــــــــــــــــــــه.

ج -اجراء عملية اعادة الزراعة في اوساط جديدة على فترات متقاربة (**7 – 3**) ايام.

د -تقليل شدة الاضاءة او الزراعة في الظلام خلال الفترة الاولـــــــــــــــــــــــــــى.

هـ تنقع الاجزاء النباتية المفصولة بالماء المقطر المعقم لبضع ساعات قبل زراعتها.

و -الزراعة في وسط غذائي سائل واجراء عمليات اعادة الزراعة بشكل متكرر لحين التأكد من خلو الوسط من هذه المواد.

ز -اضافة الفحم المنشط **Activated charcoal** الى الوسط الغذائي والذي يمتاز بزيادة المساحة السطحية لدقائقه مما يعمل على ادمصاص (**Absorption**) المواد الفينولية لغرض التخلص من تأثيرها الضار.

2- التلوث البكتيري Bacterial contamination

من الملاحظ ظهور التلوث بعد فترة من الزراعة على الرغم من اتخاذ كافة التدابير اللازمة لأجراء عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية .فيلاحظ احيانا ظهور التلوث البكتيري بعد مدة قد تصل الى عدة اشهر من الزراعة .ويكون ذلك ناتج من نمو البكتريا في الوسط الغذائي خاصة في حالة استئصال اجزاء نباتية من اشجار خشبية حيث تعيش البكتريا داخل النباتي ثم تنمو نموا بطيئا ثم يزداد عددها وتظهر الى الوسط الغذائي مما تؤثر سلبا على نمو الجزء المزروع .ومن امثلة هذه البكتريا هي

Eriwina sp. و **Bacillus sp.** وتعالج هذه الحالة من خلال اجراء عملية التفريغ الهوائي اثناء عملية تعقيم الاجزاء النباتية لغرض تغلغل المادة المعقمة الى داخل الاجزاء النباتية فضلا عن اضافة المضادات الحيوية (**Antibiotics**) الى الوسط الغذائي ويكون لها دورا في تحديد نمو البكتريا الا انها لا تقضي عليها نهائيا في بعض الاحيان.

لذا فان اولى العملية التي تتم في هذه المرحلة هي تعقيم الاجزاء النباتية بالمعقمات الكيميائية المناسبة لهذا الغرض من الجل التخلص من مسببات التلوث كالفطريات والبكتريا ومن ثم غسلها بالماء المقطر المعقم لإزالة تأثير مواد التعقيم لأن بقاءها يعيق نمو الاجزاء المزروعة .ويعتمد نجاح اي برنامج لزراعة الانسجة على مرحلة النشوء التي يتم فيها الحصول على زروعات خالية من التلوث لتكون اساس للمراحل اللاحقة.

ثانيا - مرحلة التضاعف الخضري Vegetative multiplication stage

وهي ثاني مرحلة من مراحل زراعة الانسجة ويتم فيها زيادة عدد النموات الناتجة من الجزء النباتي المزروع والتي يطلق عليها **Propagules** والتي منها يتم انتاج العدد المطلوب من النباتات .فبعد زيادة نمو الجزء المزروع في المرحلة الاولى يتم نقله الى وسط غذائي جديد بعد مرور **6 – 4 اسابيع** . ان المكونات الاساسية للوسط الغذائي في كلا المرحلتين لا تختلف كثيرا ولكن هناك اختلاف في نوع وتراكيز منظمات النمو المستخدمة والتي تعتبر من العوامل المهمة جدا لنجاح هذه المرحلة .وعادة ما يكون تركيز السايتوكاينين اعلى من تركيز الاوكسين وقد يضاف الجبرلين بتراكيز واطئة الى الوسط الغذائي في هذه المرحلة لأحداث الاستطالة في النموات التي تتطلب ذلك كما في زراعة القمم النامية للبطاطا والداليا والقرنفل والداوودي وبعد الحصول على التضاعف تنفصل النموات عن بعضها العض وتزرع منفصلة في وسط غذائي جديد يحتوي على نفس المكونات لغرض احداث تضاعف متوالي للحصول على اعداد كبيرة من النموات الخضرية .وتختلف سرعة ومعدل التضاعف باختلاف النباتات ويتراوح بين **60 – 5** في فترة زمنية محددة مع الاخذ بنظر الاعتبار توفر الظروف الملائمة للتضاعف.

ثالثا - مرحلة التجذير Rooting stage

ان الهدف من هذه المرحلة هو تموين مجموع جذري في قاعدة السيقان الناتجة من مرحلة التضاعف . حيث تفتقر الافرع الخضرية الناتجة من طريقتي الاكثار عن طريق البراعم الابطية والبراعم العرضية الى الجذور مما يتطلب تحفيز نمو الجذور من هذه الافرع .وعادة ما يتطلب اضافة الاوكسينات الى الوسط الغذائي الخاص بالتجذير ويختلف نوع الاوكسين المستخدم وتركيزه تبعا لنوع وصنف النبات . وان اضافة الاوكسينات الى الوسط الغذائي يعتبر من العوامل المشجعة لتحفيز نشوء الجذور وتختلف مدة التجذير اعتمادا على الانواع والاصناف النباتية المختلفة.وتستخدم في هذه المرحلة مكونات الوسط الغذائي الاساسية المستخدمة في المرحلتين السابقتين الا انه في بعض الاحيان يتطلب تغيير بعض مكونات الوسط الغذائي كاستخدام نصف تركيز املاح MS عند تجذير نباتات صعبة التجذير .لقد وجد ان النموات الخضرية لبعض النباتات تفشل في التجذير لدى زراعتها في الاوساط الغذائية **ويعود سبب ذلك الى تأثير السايتوكاينينات المستخدمة في مرحلة التضاعف** .وللتغلب على هذه الحالة يتم زراعتها في وسط غذائي خالي من السايتوكاينين لمدة اربع اسابيع ثم تنقل بعد ذلك الى وسط التجذير .وتستخدم في هذه المرحلة تركيبات مختلفة من الاوساط الغذائية مثل وسط **White** حيث وجد ان هناك بعض النباتات تكون استجابتها جيدة للتجذير في هذا الوسط .وقد يضاف الفحم المنشط (**activated**

(**charcoal**الى الوسط الغذائي حيث لوحظ انه يؤدي الى تحسين التجذير ويتم العمل في الوقت الحاضر باتجاه تجذير السيقان القوية النمو والنشطة الناتجة من مرحلة التضاعف في التربة مباشرة سواء بمعاملتها او عدم معاملتها بالاوكسينات وهذا من شانه توفير الكثير من الجهد والمال مقارنة في حالة التجذير في اوعية الزراعة النسيجية.

رابعا - مرحلة الاقلمة Acclimatization stage

تعتبر هذه المرحلة من المراحل المهمة والاساسية التي يعتمد عليها نجاح اي برنامج للإكثار باستخدام تقنية زراعة الانسجة ,حيث ان النباتات الناتجة في اوعية الزراعة تكون معتمدة في تغذيتها على الوسط الغذائي الاصطناعي ويتطلب تهيئتها تدريجيا للقيام بتصنيع غذائها بنفسها من خلال عملية التركيب الضوئي .حيث ان نقل النباتات بشكل مفاجئ من ظروف الزراعة في الاوعية الزجاجية والتي تكون فيها الرطوبة النسبية عالية جدا الى الحقل مباشرة سوف يعرضها الى الهلاك في اغلب الاحيان .وهذا يتطلب زراعتها تحت ظروف رطوبة عالية يتم تقليلها تدريجيا الى ان تصبح قادرة على تحمل الظروف البيئية المباشرة لتصبح قادرة على الاعتماد على نفسها في تصنيع غذائها .ان النبيتات الناتجة عادة ما تكون خالية من طبقة الكيوتكل في اوراقها او ان تكون رقيقة جدا حيث ان ظروف الرطوبة العالية المتوفرة في اوعية الزراعة تجعلها في غنى عن الحد من كمية الماء المفقودة عن طريق النتح فضلا عن ان الاوعية الناقلة في النبيتات تكون غير متطورة الى الحد الذي يجعلها كفوءة في الامتصاص .ويستخدم بعض الباحثين مواد مانعة لتبخر الماء ترش على المجموع الخضري للتعويض عن طبقة الكيوتكل لكنها غالبا ما تكون غير فعالة مما يتطلب اجراء عملية التقسية والاقلمة لمدة مناسبة قبل زراعة النباتات في المكان المستديم.

وتتطلب هذه العملية عناية فائقة حيث يتم غسل النباتات جيدا لإزالة بقايا الوسط الغذائي العالقة في الجذور ومن ثم نقل النباتات الى السنادين ووضعها في مكان محمي وتوفير رطوبة عالية حول النباتات في الايام الاولى ومن ثم تقليل الرطوبة تدريجيا حتى تصبح النباتات قادرة على الامتصاص بشكل كفوء لتعويض النقص الذي يحصل في الماء بسبب التبخر .وبعد تقسية واقلمة النباتات بشكل جيد لتكون قادرة لتحمل الظروف البيئية تترك لتنمو بصورة طبيعية.

جامعة الانبار
1987 1439
UNIVERSITY OF ANBAR

1987
1408
UNIVERSITY OF ANBAR